

人工接種条件下におけるチャ赤焼病の病斑拡大と葉中の全窒素含有量及び葉の成熟度の関係

池田 奈実子・廣野 祐平・吉田 克志*

(平成 23 年 9 月 30 日受理)

Relationship Between Lesion Development and Nitrogen Content and Maturity of Tea Leaves after Artificial Inoculation with the Causal Agent of Tea Bacterial Shoot Blight, *Pseudomonas syringae* pv. *theae*

Namiko Ikeda, Yuhei Hirono and Katsuyuki Yoshida

I 緒 言

Pseudomonas syringae pv. *theae* (Hori 1915) Young, Dye & Wilkie 1978 によるチャ赤焼病は、炭疽病、輪斑病とともにチャの重要病害の一つであり、一番茶の収量への影響はチャの病害の中で最も大きい(富濱, 2005)。赤焼病の発病は年次間差や圃場間差が大きく、発生予察が困難で、有効な防除資材が少ないことから難防除病害となっている。

炭疽病、輪斑病については、抵抗性の品種間差(鳥屋尾ら, 1976; 武田, 2002)や遺伝様式(武田, 2002; 池田・安間, 2004)が明らかにされているが、赤焼病抵抗性の品種間差については、「静印雑 131」が極弱であること以外は(岡部・後藤, 1957)、調査ごとに結果が異なっており(堀川, 1985; 澗之上・澗之上, 2005)、再現性のある抵抗性の評価が行われていない。アッサム変種と中国変種の赤焼病に対する抵抗性の差も明らかではない。

また近年チャの新害虫としてチャトゲコナジラミが問題となっている(Kanmiya ら, 2011)。2004 年 8 月に京都府宇治市においてチャトゲコナジラミのチャへの寄生が初めて確認され、当初は近畿地方を中心に発生が拡大したが(山下・林田, 2006)、2010 年 10 月には国内

最大の茶産地である静岡県でも発生が確認された(静岡県病害虫防除所, 2010)。チャトゲコナジラミには冬期のマシン油による防除が効果的であり、今後チャへの散布が増加することが予想されるが(山下・吉安, 2010)、一方で秋冬期マシン油散布は赤焼病の発生を助長することが明らかにされており(富濱, 2009)、チャトゲコナジラミ防除のためのマシン油散布が、赤焼病発生を促すことが懸念される。したがって、赤焼病抵抗性の品種間差ならびに発生の変動要因の解明が必要とされている。

著者らが、注射器を用いた人工接種によって赤焼病抵抗性の検定を試みたところ、葉位や接種時期によって病斑の大きさに差が認められた一方で、接種時期に関わらず、上位葉ほど病斑が大きい傾向がみられた(池田ら, 2009)。いずれにしても精度の高い検定法を確立するためには、赤焼病の病斑拡大の変動要因を明らかにする必要がある。

赤焼病は晩秋から早春にかけて発病する病害であり、寒害によって被害が拡大することが明らかにされている(安藤 1988)。一方、窒素施肥量が増加すると、発病葉数が増えることが報告されている(宮田ら, 2003)。著者らが行った人工接種試験では上位葉ほど病斑が大きい傾向がみられたが(池田ら 2009)、茶葉中の全窒素含有量は上位葉ほど多い(三輪ら, 1979)。これらの結果から葉中の全窒素含有量が、寒害以外に赤焼病の病斑拡

〒428-8501 静岡県島田市金谷猪土居 2769
茶業研究領域

* 〒898-0087 鹿児島県枕崎市瀬戸町 87

大に及ぼす要因の一つとして考えられる。本試験では、主要品種である‘やぶきた’と罹病性品種である‘静印雑131’の一番茶芽の徒長枝を1週間ごとに採取して、茶葉に人工接種を行った場合の成熟度の異なる各葉位の発病程度、葉中の全窒素含有量及びそれらの関係を調べた。

接種に用いたチャ赤焼病細菌 tea 632 株は静岡大学農学部瀧川雄一教授から分譲いただいた。ここに記して謝意を表す。

II 材料及び方法

1 供試植物

供試植物として、野菜茶業研究所金谷茶業研究拠点（静岡県島田市）内の幼木茶園（2004年定植）の‘やぶきた’と‘静印雑131’を用いた。2009年及び2010年の年間施肥量は、成分量で窒素49.1、リン酸21.9、カリ27.1（kg/10a）である。一番茶の摘採期の2010年5月10日から6月14日まで毎週1回、一番茶新芽が伸長した徒長枝を各品種20本ずつ採取し、接種検定用と新葉の全窒素含有量の測定用にそれぞれ10本ずつ供試した。6月21日、28日は接種検定用に10本ずつ採取した。

2 供試材料及び接種法

赤焼病細菌は、静岡大学農学部瀧川雄一教授から分譲された tea 632 株を供試した（瀧川ら，1988）。冷凍保存した菌株をキング B 平板培地で 26℃、48 時間培養して増殖し、滅菌水に懸濁して、細菌濃度を約 1×10^7 cfu/ml に調整した。茶葉への接種は赤焼病細菌懸濁液を、ツベルクリン用の 1 ml の注射器を用いて、葉の裏側から中肋を中心に組織内に注入することにより行った。注射器の針で中肋に傷をつけた後、細菌懸濁液を入れた針が付いていない注射筒の先を傷の部分に押しつけ、水浸状になった部分が約 1 cm² になるように注入した（図-1）。接種した枝条は育成用形成培地（アクアフォーム、松村アクア（株）、東大阪）に挿してビニール袋でおおい、15℃、12 時間日長に設定した人工気象室内（KB-20 D 型、小糸工業（株）、横浜）で培養した。接種 14 日後に中肋に沿って形成された病斑長を測定した。葉位は上から順に数え、各葉位の病斑の長さの 10 本の平均値を求めた（図-2、図-4、図-5）。

3 葉の全窒素含有量の測定

新芽あるいは徒長枝から葉を切り離し、上位から葉位ごと採取した。葉位ごとの試料はまとめて 2 分間蒸熟す



図-1 チャ赤焼病細菌を人工接種した‘やぶきた’の切り枝
赤焼病細菌懸濁液を注入直後の水浸状の状態を示す。

表-1 チャ赤焼病菌人工接種条件下検定における病斑拡大の品種、葉位、接種時期による差異

接種日	品 種	葉 位								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
5月10日	静印雑131	27.5	9.0	5.6						
	やぶきた	16.3	11.4	10.1	8.3	4.5				
5月17日	静印雑131	7.4	11.0	8.5	7.6					
	やぶきた	6.5	8.6	7.7	4.9	4.0				
5月24日	静印雑131	14.4	9.5	10.0	9.0					
	やぶきた	6.2	7.1	6.5	6.0	4.4				
5月31日	静印雑131	7.8	7.1	8.6	5.4	5.6				
	やぶきた	6.4	5.9	4.9	4.8	4.3	4.6			
6月7日	静印雑131	8.5	8.0	7.6	7.8	7.7	7.3			
	やぶきた	7.1	5.5	5.6	4.9	5.7	4.7			
6月14日	静印雑131	9.8	9.5	8.7	8.0	7.5	6.6			
	やぶきた	6.9	6.1	5.5	5.2	4.9	5.1	3.9		
6月21日	静印雑131	8.5	7.8	7.3	5.6	6.0	5.5	5.5	5.7	
	やぶきた	6.8	7.0	5.5	4.2	4.3	5.1	4.5		
6月28日	静印雑131	7.2	8.7	7.8	7.0	6.8	6.6	6.6	6.0	6.6
	やぶきた	6.5	5.0	4.6	4.6	5.1	4.7	4.5		

病斑の大きさの平均値を示す (mm).

ることによって殺青した後、70°Cで乾燥した。乾燥後、アルミラミネート袋に入れて密封し、分析時まで4°Cで保存した。試料は分析直前にサイクロンサンプルミル(Udy社、米国)で粉碎し、分析に用いた。全窒素含有量は、窒素・蛋白分析装置(FlashEA 1112, ThermoQuest社、ミラノ、イタリア)で測定した。

III 結 果

5月10日は‘静印雑131’の葉数は最も多い枝で3枚、‘やぶきた’の葉数は5枚であったが、6月28日にはそれぞれ10枚と9枚に増加した。葉位は徒長枝の最上位葉を第1葉とし、以下、第2葉、第3葉のように累進的に葉位を決めた。しかしながら、新しい葉が展開するごとに葉位は繰り下がるため、例えば5月10日の‘静印雑131’の第1葉は6月28日の第8葉に相当する。

同一接種日の同一葉位で比較した場合、5月10日の第2葉、第3葉を除いて、‘静印雑131’が‘やぶきた’より病斑が大きかった。‘静印雑131’の5月10、17、

24日接種の上位葉、‘やぶきた’の5月10日接種では病斑が10mm以上拡大する場合があった(表-1)。

第3葉までのデータを用いて、接種時期、品種、葉位を要因とする3元配置分散分析を行った。F検定の結果、接種時期間、品種間において1%水準、葉位間において5%水準で有意差が認められた。接種日×品種、接種日×葉位、品種×葉位の2因子交互作用はいずれも認められなかった(表-2)。

5月10日に接種した供試材料は、‘やぶきた’、‘静印雑131’とも落葉が多かった。落葉した場合は病斑が葉柄まで拡大していた。‘静印雑131’の第1葉と第2葉は10本中6本が落葉した。落葉しなかった第1葉は病斑が大きく拡大した。6月28日の接種では、‘やぶきた’は第1葉から第3葉、‘静印雑131’は第1葉、第2葉と第6葉以下の落葉が多かった。5月10日の場合と異なり、病斑はほとんど拡大していない場合が多かった。落葉した場合は測定から除外した。

5月10日に展開していた葉位の葉について、葉の成熟に伴う病斑の大きさの変化を図-2に示した。5月10

表-2 チャ赤焼病の病斑拡大へ及ぼす要因についての分散分析

変動因	自由度	平均平方和	F
主効果			
接種日	7	29.0	5.13 **
品種	1	64.9	11.48 **
葉位	2	25.1	4.44 *
2因子交互作用			
接種日×品種	7	1.9	0.34
接種日×葉位	14	14.0	2.48
品種×葉位	2	4.5	0.80
誤差	14	5.6	

**, *:F検定の結果, 1%水準あるいは5%水準で有意であることを示す.

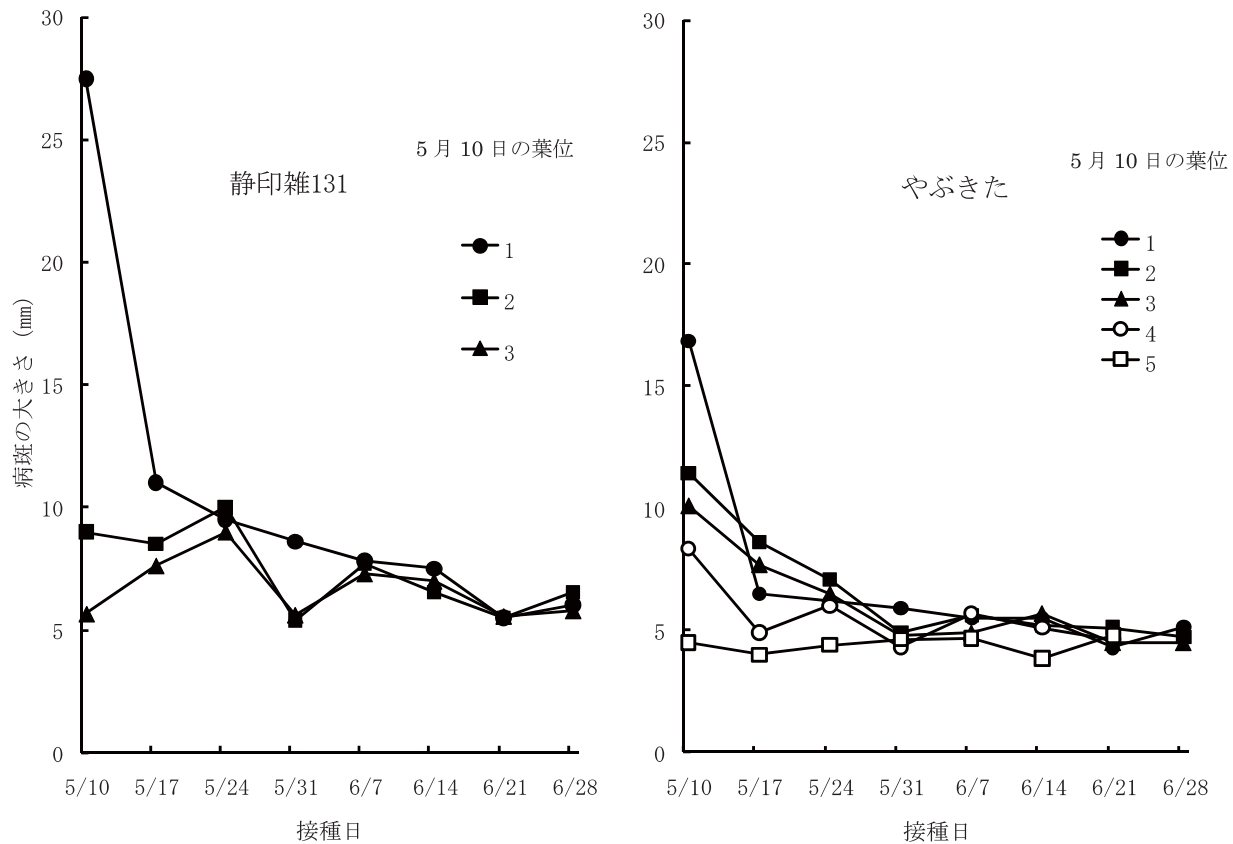


図-2 チャ葉の成熟程度が人工接種条件下におけるチャ赤焼病の病斑拡大に及ぼす影響

日の展開直後の第1葉に接種した場合は, 両品種とも大きく病斑が広がったが, 1週間後の5月17日に接種した場合はかなり小さくなり, その後葉が成熟し, 硬化するにしたがって小さくなる傾向がみられた(図-2).

‘静印雑131’の5月10日の第2葉と第3葉は, 葉が展開して1ヶ月以上経過した6月に接種した場合でも病斑が少し拡大した. ‘やぶきた’の5月10日の第2葉か

ら第4葉は, 葉が成熟するにしたがって病斑は小さくなった. ‘やぶきた’の5月10日の第5葉の病斑は約5mmと小さく, 調査期間中病斑の大きさはほぼ一定であった.

両品種, 各接種時期とも上位葉の病斑が大きく, 下位葉の病斑が小さい傾向がみられた(図-3). 接種時期が遅くなるにしたがって, 上位葉と下位葉の病斑の大きさの差は小さくなった(表-1).



図-3 ‘やぶきた’へのチャ赤焼細菌人工接種による葉位別の病斑拡大の差異
5月10日に接種し、14日後に調査、葉位は左から上位葉

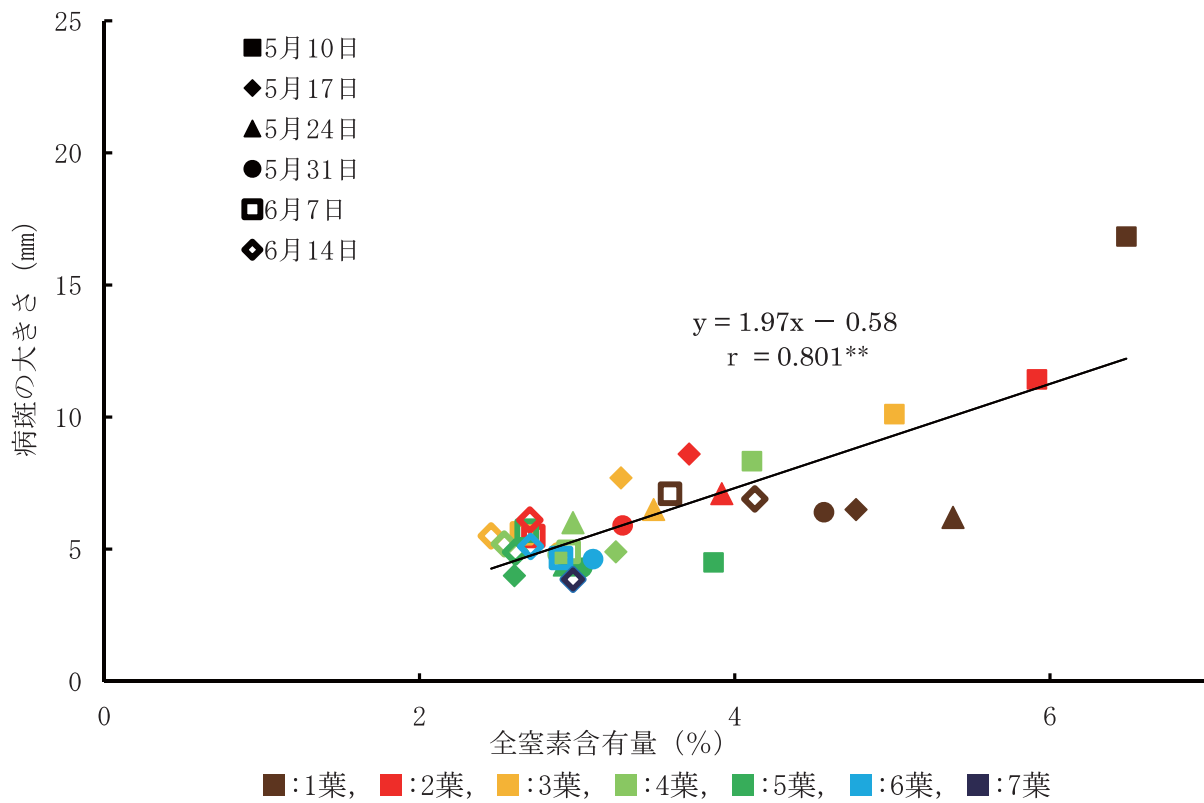


図-4 ‘やぶきた’における茶葉中の全窒素含有量と赤焼病の病斑拡大の関係
**はF検定の結果、1%水準で有意であることを示す

葉中の全窒素含有量は、上位葉ほど多かった。5月10日は各葉位とも‘やぶきた’の方が含有量は多かったが、他の接種日では、6月7日の第6葉、第7葉を除いて‘静印雑131’の方が、含有量が多かった。‘静印雑

131’の第1葉は全接種日で5%を越えた。5月10日に接種した枝の第1葉は両品種とも全窒素含有量が6%以上で、病斑が大きく拡大した。葉中の全窒素含有量が高いほど、病斑が拡大する傾向が認められた。‘やぶきた’

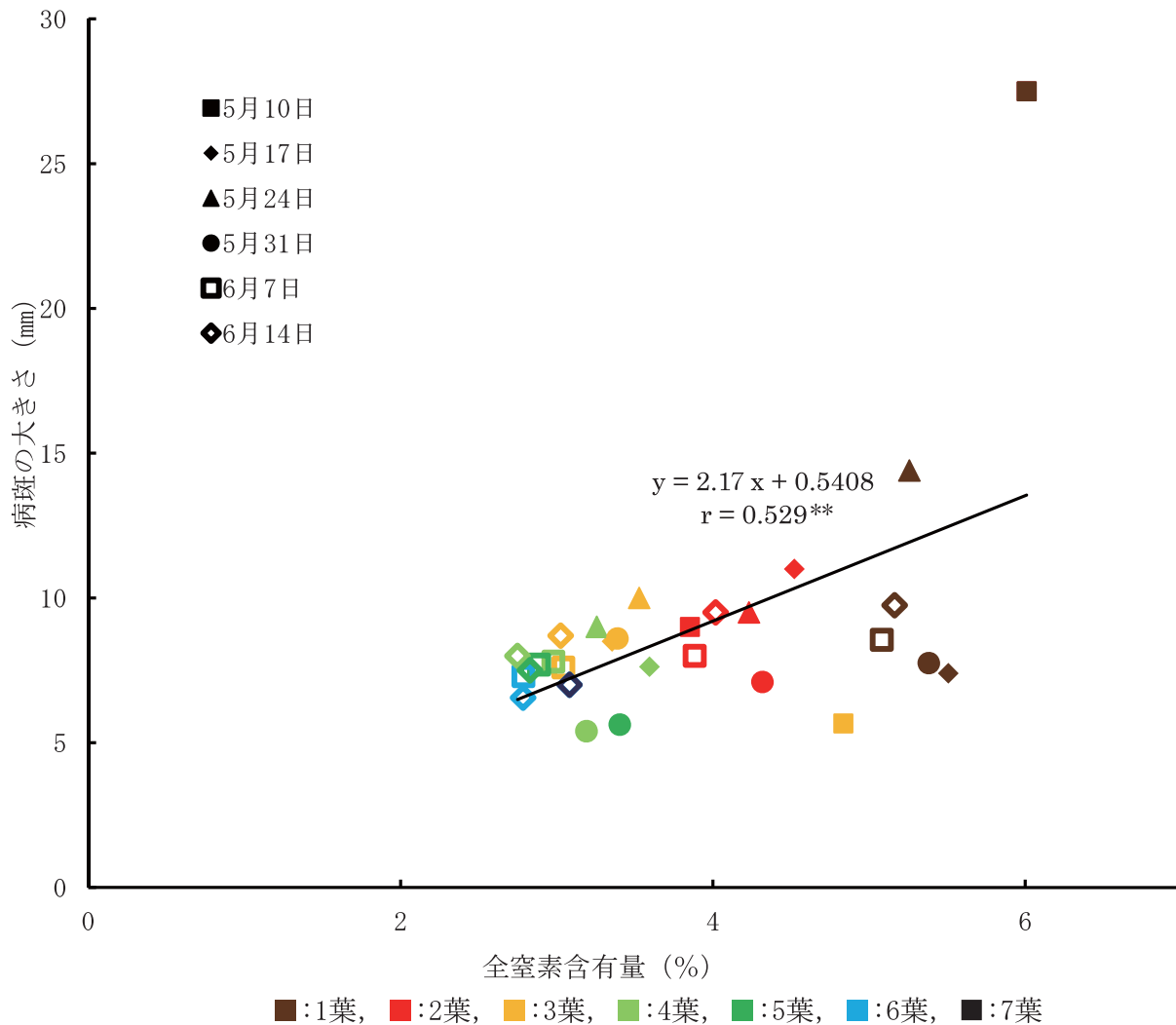


図-5 ‘静印雑 131’ における茶葉中の全室素含有量と赤焼病の病斑拡大の関係

**はF検定の結果、1%水準で有意であることを示す

では葉中の全室素含有量が3%以下の場合、6月14日の第2葉を除いて病斑の長さは6mm以下であったが、‘静印雑 131’は7mm以上に拡大する場合がみられた。全室素含有量と病斑の大きさの間には、‘やぶきた’で $r=0.801$ 、‘静印雑 131’で $r=0.529$ と正の相関関係が認められた(図-4、図-5)。

IV 考 察

本試験では注射器を用いて人工接種を行うことによって、両品種の抵抗性の差を明らかにすることができたが、接種時期、葉位による差も認められた。したがって、これらの要因による影響の解明が必要である。

中生品種‘やぶきた’は日本におけるチャの主要品種で、赤焼病抵抗性は中程度であるが(堀川ら、1985:池

田ら 2009)、生産者の圃場では激発することもある。一方、極早生品種‘静印雑 131’は赤焼病に特に弱いことが明らかにされている品種である(岡部・後藤、1957)。野菜茶業研究所内の茶園は、2010年3月30日に大規模な凍霜害を受け(松尾ら、2010)、その後も低温が続いた。材料を採取した茶園は、自然仕立てのため、所内の弧状仕立ての茶園よりは被害は少なかったが、凍霜害や低温で新芽の伸びが一度停止したため、両品種の生育ステージはほぼ同じであった。一番茶摘採期の5月10日に採取した新芽は、両品種ともやや硬化した程度であり、柔らかい上位葉を用いた場合、病斑が極端に大きく拡大して接種2週間後までに落葉するが多かった。落葉が多い場合は計測できる枚数が少なくなり誤差が大きくなるので、検定に用いる試料は、摘採期を過ぎた硬化した芽あるいは枝が適当であると考えられる。

本試験では、すべての接種時期において‘静印雑 131’の病斑が‘やぶきた’より大きかった。しかし、‘やぶきた’においても、5月10日や5月17日に接種した場合の成熟していない上位葉では病斑が大きく拡大した。

同一接種日では上位葉ほど、人工接種における赤焼病斑が大きく拡大し、同じ葉位では接種日が早いほど病斑が大きい傾向が認められた。同一接種日では遅く展開した上位葉ほど未成熟で全窒素含有量が多く、同じ葉位では接種日が早いほど未成熟で、全窒素含有量が多いことが確認された。これらの結果は、全窒素含有量が多い未成熟な葉で病斑拡大が進むことを示している。また、全窒素含有量を指標の一つとして、茶葉の成熟度を判断することが可能であることが推察された。

窒素肥料の多用が植物の病害感受性の拡大に及ぼす影響については、イネのいもち病をはじめ、古くから研究されてきた（浅川，1987；松山，1975）。チャの他の重要病害である輪斑病の場合、窒素施用量の増加は、一番茶芽で礫耕栽培を行った試験で感染率を増加させたが、圃場試験では感染率、病斑の拡大とも影響を与えなかった（堀川ら 1990）。もう一つの重要病害である炭疽病では、カリ肥料の欠如が発病を助長することが明らかにされているが、窒素施肥量の影響については報告されていない（永田 1954）。これらに対して、宮田ら（2003）は赤焼病に対する防除を行わない条件下では、窒素施肥量が多いと、成葉中の窒素含有量が増加し、赤焼病の病斑数も増加することを明らかにしている。

チャ新芽の全窒素含有量は製茶品質と密接な関係があるため多くの報告があるが、収穫物でない成葉の全窒素含有量についての報告は少ない。一番茶新芽の全窒素含有量は同一の栽培条件であれば‘やぶきた’の方が‘静印雑 131’より多いと考えられる（池田ら，2006）。本試験でも一番茶摘採期に当たる5月10日に採取した試料では、葉の全窒素含有量は各葉位とも‘やぶきた’の方が多かった。しかし5月17日以降に採取した材料では、ほとんどの採取日、葉位で‘静印雑 131’の方が多かった。森田ら（2004）はチャ品種の新芽と成葉の全窒素含有量は相関が認められないことを報告しており、新芽の全窒素含有量が高い品種が、成葉の全窒素含有量が高いとは限らないと考えられる。

‘やぶきた’のような中程度の抵抗性の品種でも、全窒素含有量が6%以上の未熟な葉では病斑が拡大するが、全窒素含有量が3%前後の成熟が進んだ葉では病斑はほとんど拡大しない。一方‘静印雑 131’のような罹病性の品種では、5月10日接種の第1葉は、柔らかくて全

窒素含有量が多く、同日接種の第2葉以下や5月17日以降に接種した第1葉と比べても特に病斑が大きかった。また、‘全窒素含有量が多い場合は‘やぶきた’より病斑が大きく広がり、少ない場合でも病斑が拡大しやすい傾向が確認された。以上のことから全窒素含有量が多い、未成熟な生育ステージでは、抵抗性の強弱に関わらず、茶葉の赤焼病感受性が增大することが明らかである。一方、感受性品種では全窒素含有量が少ない場合でも、病斑拡大が起こることから、赤焼病に対する抵抗性を全窒素含有量だけで説明することはできず、その他の要因について、今後の詳細な解析が必要である。

本試験の結果、葉が未熟で、葉中の窒素含有量が多い条件が赤焼病感受性増大の一因であることが推察された。その要因については窒素成分が直接赤焼病菌の増殖に影響を与えているのか、あるいはチャ成葉の組織や生理的機能に間接的に影響を与えているのか、いくつかの可能性が考えられるが（浅川，1987；松山，1975）今後の説明が必要である。

V 摘 要

注射器を用いた人工接種条件下における赤焼病の病斑拡大と葉の全窒素含有量の関係を調べた。すべての接種日において、‘静印雑 131’が‘やぶきた’より病斑が大きかった。各接種日とも上位葉ほど病斑が大きい傾向がみられたが、葉が成熟するほど上位葉と下位葉の差は小さくなった。葉中の全窒素含有量は上位葉ほど高かった。葉中の全窒素含有量と病斑の大きさとの間には、正の相関関係が見られた。以上の結果から、葉中の全窒素含有量が多い、未成熟なステージの茶葉は赤焼病感受性が高いことが推察された。

引用文献

- 1) 安藤康雄 (1988) : 霜寒害年におけるチャ赤焼病の激発。野菜・茶試研報, B 2, 41-45.
- 2) 浅川征男 (1987) : 窒素肥料と病害発生。化学と生物, 25, 302-310.
- 3) 洲之上康元・洲之上弘子 (2005) : 赤焼病。日本のチャの品種, 90-91. 関東図書株式会社, 埼玉.
- 4) 堀川知廣 (1985) : 静岡県におけるチャ赤焼病の分布, 特徴, 発生時期および品種間差異。関西病虫研報, 27, 7-14.
- 5) 堀川知廣・中村充・森田明雄 (1990) : 窒素, カリウムの施用量がチャ輪斑病の発生に及ぼす影響。静岡茶試研報, 15, 29-38.
- 6) 池田奈実子・安間舜 (2004) : チャ炭疽病抵抗性に関するダイヤレル分析。育種学研究, 6, 135-141.
- 7) 池田奈実子・堀江秀樹・向井俊博・後藤哲久 (2006) : チャ

- 品種の一番茶新芽の化学成分含有量の年次変動. 日作紀, 75, 511-517.
- 8) 池田奈実子・桐明智也・吉田克志 (2009) : チャ赤焼病抵抗性の品種間差. 茶研報, 108 (別), 86-87.
 - 9) Kanmiya, K., S. Ueda, A. Kasai, K. Yamashita, Y. Sato and Y. Yoshiyasu (2011): Proposal of new specific status for tea infesting populations of the nominal citrus spiny whitefly *Aleurocanthus spiniferus* (Homoptera; Aleyrodidae). *Zootaxa*, 2797, 25-44.
 - 10) 松尾喜義・荒木琢也・岡本毅 (2010) : 2010年3月30日静岡県牧之原地周辺における凍霜害時の茶株面気温と典型的被害事例. 茶研報, 110, 65-73.
 - 11) 松山宜明 (1975) : イネいもち病の抵抗性. 化学と生物, 13, 107-109.
 - 12) 三輪悦夫・高柳博次・中川致之 (1978) : 葉位別にみた茶葉の化学成分含量. 茶研報, 47, 48-52.
 - 13) 宮田裕次・塚本統・淵通則 (2003) : 窒素施肥量が茶樹幼木園のチャ赤焼病発生に及ぼす影響. 長崎総合農林試験報 (農業部門), 29, 65-71.
 - 14) 森田明雄・小西茂毅・中村順行・清水絹恵・横田博実 (2004) : チャ品種の育成年度に応じた茶葉中の各種成分含量の変化. 育種学研究, 6, 1-9.
 - 15) 永田利美 (1953) : 茶タンソ病に関する研究 (第2報) 発生に及ぼす二, 三の条件について. 茶業技術研究, 9, 15-17.
 - 16) 岡部徳夫・後藤正夫 (1957) : 茶樹の赤焼病について. 茶技協講要, 12.
 - 17) 静岡県病害虫防除所 (2010) : 平成22年度病害虫発生予察特殊報第1号.
 - 18) 武田善行 (2002) : わが国チャ遺伝資源の多様性とその育種への利用に関する研究. 野菜茶研研報, 1, 97-180.
 - 19) 瀧川雄一・安藤康雄・浜屋悦次・露無慎二・後藤正夫 (1988) : 1983年, チャに発生した細菌病の病原細菌の同定. 日植病報, 54, 224-228.
 - 20) 富濱毅 (2005) : チャ赤焼病の被害許容水準に基づく要防除水準および防除有効水準. 九病虫研会報, 51, 30-35.
 - 21) 富濱毅 (2009) : チャ赤焼病の病原細菌の諸形質・生態ならびに防除法に関する研究. 鹿児島総農セ研報 (耕種), 3, 225-282.
 - 22) 鳥屋尾忠之・武田善行・松下繁 (1976) : チャ炭疽病抵抗性の品種間差異と遺伝力. 茶技研, 50, 1-8.
 - 23) 山下幸司・林田吉王 (2006) : 京都府のチャにおけるミカントゲコナジラミの発生と防除対策. 植物防疫, 60, 378-380.
 - 24) 山下幸司・吉安裕 (2010) : チャのミカントゲコナジラミ越冬世代幼虫に対するマシン油乳剤散布による防除効果. 関西病虫研報, 52, 157-159.

Relationship Between Lesion Development and Nitrogen Content and Maturity of Tea Leaves after Artificial Inoculation with the Causal Agent of Tea Bacterial Shoot Blight, *Pseudomonas syringae* pv. *theae*

Namiko Ikeda, Yuhei Hirono and Katsuyuki Yoshida

Summary

Tea bacterial shoot blight caused by *Pseudomonas syringae* pv. *theae* (Pst) is one of the major diseases in tea cultivation in Japan. The bacterial shoot blight resistance of Japanese tea cultivars has not yet been clarified with the exception of that of 'Shizu Inzatsu 131', which has been shown to be extremely susceptible. Because epidemics of bacterial shoot blight occur irregularly, it is difficult to determine disease resistance from field observations. To developing a reliable inoculation assay, we investigated the effects of inoculation date, leaf position, and total nitrogen content of tea leaves on the development of bacterial shoot blight lesions. From 10 May to 28 June 2010, shoots of 'Shizu Inzatsu 131' (susceptible) and 'Yabukita' (moderately resistant) were collected and injected with Pst by using a syringe. The lesions on 'Shizu Inzatsu 131' were larger than those on 'Yabukita' after each inoculation. Lesions on the upper leaves were larger than those on the lower leaves after each inoculation, in each cultivar. Nitrogen content decreased from the upper leaves to the lower ones. There was a significant positive correlation between nitrogen content of tea leaves and lesion size in each cultivar at the 1% level. Total nitrogen content and maturity of tea leaves are among the environmental factors determining susceptibility to bacterial shoot blight.

Accepted; September 30, 2011

Tea Research Division

2769 Shishidoi, Kanaya, Shimada, Shizuoka, 428-8501 Japan